

SKRIPSI

***MOLECULAR SEXING PADA ACCIPITRIDAE MENGGUNAKAN
METODE LOOP MEDIATED ISOTHERMAL AMPLIFICATION (LAMP)
DAN POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)***

Disusun oleh:
Cristina Evi Natallia
NPM : 140801558



**UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
YOGYAKARTA
2018**

SKRIPSI

***MOLECULAR SEXING PADA ACCIPITRIDAE MENGGUNAKAN
METODE LOOP MEDIATED ISOTHERMAL AMPLIFICATION (LAMP)
DAN POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)***

Disusun oleh:
Cristina Evi Natallia
NPM : 140801558



**UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
YOGYAKARTA
2018**

PENGESAHAN

Mengesahkan skripsi dengan judul

***MOLECULAR SEXING PADA ACCIPITRIDAE MENGGUNAKAN
METODE LOOP MEDIATED ISOTHERMAL AMPLIFICATION (LAMP)
DAN POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)***

yang dipersiapkan dan disusun oleh:

**Cristina Evi Natallia
NPM: 140801558**

Telah diuji dan dipertahankan di depan Tim Penguji
Pada hari Selasa, tanggal 10 Oktober 2018
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

SUSUNAN TIM PENGUJI

Pembimbing Utama

Anggota Tim Penguji



(Ir. Ign. Pramana Yuda, M.Si., Ph.D.) (Dr. Dra. Exsyupransia Mursyanti, M.Si.)

Pembimbing Pendamping



(Dr. Felicia Zahida, M.Sc.)

Yogyakarta, 31 Oktober 2018

UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA

FAKULTAS TEKNOBIOLOGI



Dekan,



(Dr. Dra. Exsyupransia Mursyanti, M.Si.)

HALAMAN PERSEMBAHAN

didedikasikan untuk kedua orang tuaku

Bapak Sunarso dan Simbok Maria Magdalena Sumarmi

untuk kakakku

Sr. M. Oktaviane FSGM

serta untuk diriku sendiri

**“Dadiyo Satriyo Utomo.
Pantang menyerah, tatag, teteg, lan tangguh” – Bapak Sunarso**

PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Saya yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Cristina Evi Natallia

NPM : 140801558

Judul Skripsi : *Molecular Sexing* pada Accipitridae Menggunakan Metode *Loop Mediated Isothermal Amplification* (LAMP) dan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Mengumumkan bahwa skripsi dengan judul di atas adalah benar hasil karya penulis yang penulis susun secara jujur berdasarkan etika akademik dan bukan merupakan hasil plagiat. Mengenai kutipan yang digunakan di dalam naskah skripsi telah penulis sertakan nama penulis dan telah penulis cantumkan ke dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini dibuat dengan sebenarnya dan apabila ternyata di kemudian hari ternyata penulis terbukti melanggar pernyataan penulis di atas, penulis bersedia menerima saksi akademik yang berlaku (dicabut predikat kelulusan dan gelar kesarjanaan penulis).

Yogyakarta, 4 Oktober 2018

Yang menyatakan



Cristina Evi Natallia
140801558

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Bapa di Surga atas segala limpahan rahmat dan kasih-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “*Molecular Sexing* pada Accipitridae Menggunakan *Metode Loop Mediated Isothermal Amplification (LAMP)* dan *Polymerase Chain Reaction (PCR)*”. Naskah skripsi ini disusun guna memenuhi syarat untuk menyelesaikan Program studi S-1 bagi penulis. Penelitian dan penulisan naskah skripsi ini dapat terselesaikan dengan lancar berkat adanya bantuan, arahan, saran, dan dukungan dari berbagai pihak. Maka, pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada :

1. Dr. Dra. E. Mursyanti, M.Si. selaku dekan Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta.
2. Ir. Ign. Pramana Yuda, M.Si., Ph.D. selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan bimbingan, motivasi, dan arahan dari awal penelitian hingga terselesainya penyusunan naskah skripsi ini.
3. Dr. Felicia Zahida, M.Sc. selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah memberikan bimbingan, motivasi, dan arahan dari awal penelitian hingga terselesainya penyusunan naskah skripsi ini.
4. Segenap Dosen, Karyawan, Staff Tata Usaha Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta yang telah memberikan ilmu dan pengetahuan serta membantu administrasi selama masa studi di

Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta selama kurang lebih 4 tahun ini.

5. Pak Anto selaku staff Laboratorium Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta yang telah membantu dalam penyediaan alat dan bahan serta saran dan bimbingan yang dibutuhkan selama penelitian berlangsung.
6. Kedua orang tua penulis Bapak Sunarso dan Simbok Maria Magdalena Sumarmi serta kakak Sr. M. Oktavanie FSGM yang selalu memberikan semangat, motivasi, dan dukungan baik secara moriil maupun materi kepada penulis sehingga penulis mampu melewati setiap proses yang dilalui selama studi.
7. Alphonsus Yospy Guntur Dirgantoro yang selalu memberikan semangat, motivasi, dan dukungan serta doa sehingga penulis mampu menyelesaikan penelitian dengan lancar.
8. Anggota geng Grup Kotor (Gunjack, Aye, Bindo, Lina, Itin, Ujang, Dikacuk, Donna, Kican, Jaya, Atun, Acong, Kris, Melia, Capus) selaku sahabat yang selalu berusaha menemani dan membantu penulis dalam tahap proses penelitian hingga penulisan naskah.
9. Anggota geng Grup Pejuang Molekuler (Hevi, Elsa, Henry, Dimas, Hesty, Reginem, Ricky, Tessa, dan Budi) yang turut membantu dan saling berbagi saran untuk penulis dalam proses penelitian.

10. Donna Vanda Anggraeni selaku teman seperjuangan selama penelitian berlangsung dan saling memberi semangat dalam proses penelitian hingga penulisan naskah skripsi.

11. Gilbert, Bagas, Arlio, Sergius, Bubun dan Kasih selaku ADPL dan ASKORLAP KKN 73 UAJY Sintang-Sekadau yang telah mewarnai hari-hari penulis selama bertugas serta memberi dukungan dan motivasi hingga terselesainya naskah skripsi ini.

12. Seluruh mahasiswa Fakultas Teknobiologi angkatan 2014.

13. Seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan naskah skripsi ini masih banyak kekurangan. Namun penulis berharap semoga naskah skripsi ini dapat berguna bagi pembaca.

Yogyakarta, Oktober 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
INTISARI	xii
 I. PENDAHULUAN	 1
A. Latar Belakang	1
B. Keaslian Penelitian	4
C. Rumusan Masalah Penelitian	6
D. Tujuan Penelitian	7
E. Manfaat Penelitian	7
 II. TINJAUAN PUSTAKA	 8
A. Identifikasi Jenis Kelamin pada Burung Monomorfik	8
B. Primer <i>Molecular sexing</i>	18
C. Suku Accipitridae	21
D. Hipotesis	28
 III. METODE PENELITIAN	 29
A. Waktu dan Tempat Penelitian	29

B. Alat dan Bahan.....	29
C. Pelaksanaan dan Cara Kerja.....	30
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	40
A. Hasil Isolasi DNA.....	40
B. Hasil Amplifikasi dan Identifikasi Jenis Kelamin menggunakan PCR....	41
C. Hasil Amplifikasi dan Identifikasi Jenis Kelamin menggunakan LAMP....	44
V. SIMPULAN DAN SARAN.....	53
A. Simpulan.....	53
B. Saran.....	53
DAFTAR PUSTAKA.....	54

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Komposisi Master Mixture PCR.....	35
Tabel 2. <i>Thermalcycler Temperature Setting</i>	36
Tabel 3. Urutan Basa Pasangan Primer yang Digunakan dalam Reaksi LAMP.....	37
Tabel 4. Komposisi <i>Master Mixture</i> LAMP.....	38
Tabel 5. Hasil Kuantifikasi DNA	40
Tabel 6. Hasil pengukuran panjang basa hasil sexing primer 2561/2728.....	43
Tabel 7. Hasil <i>Sexing</i> dengan Metode PCR dan LAMP.....	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Skema tahapan PCR.....	11
Gambar 2. Penempelan FIP dan pelepasan DNA untai tunggal.....	15
Gambar 3. Perpanjangan DNA ke arah 3'.....	15
Gambar 4. Penempelan F3 pada daerah F3c.....	15
Gambar 5. Pembentukan untai ganda DNA.....	16
Gambar 6. Terlepasnya rantai DNA hasil perpanjangan primer FIP.....	16
Gambar 7. Penempelan BIP pada untai DNA hasil tahap 5.....	17
Gambar 8. DNA untai ganda.....	17
Gambar 9. <i>Dumbbell structure</i>	17
Gambar 10. Lokasi primer F3/B3 dan FIP/BIP sepanjang sekuen gen <i>CHD-W</i>	20
Gambar 11. Halaman Beranda PrimerExplorer.....	32
Gambar 12. Upload file sekuen DNA.....	32
Gambar 13. Pengaturan <i>Candidate of Primer</i>	33
Gambar 14. <i>Candidate of Primer</i>	34
Gambar 15. Pemilihan primer.....	35
Gambar 16. Hasil visualisasi produk PCR dengan Primer 2561/2728.....	43
Gambar 17. Hasil visualisasi elektroforesis produk LAMP primer ACCIW dan ACCIZ.....	45
Gambar 18. Hasil visualisasi elektroforesis produk LAMP primer NEO-W.....	46
Gambar 19. Hasil visualisasi elektroforesis produk LAMP primer EB-W.....	47
Gambar 20. Hasil visualisasi penambahan calcein 10 mM produk LAMP primer NEO-W.....	48
Gambar 21. Hasil visualisasi elektroforesis produk LAMP primer EB-Z.....	51

INTISARI

Kelompok burung dari suku Accipitridae pada umumnya bersifat monomorfik maka dibutuhkan metode *molecular sexing* untuk mengetahui jenis kelamin dari suku tersebut. Saat ini metode PCR telah banyak digunakan, namun PCR memiliki kelemahan seperti membutuhkan mesin pengatur suhu dan amplikon tidak dapat divisualisasi secara langsung. Saat ini telah dikembangkan *Loop-Mediated Isothermal Amplification* (LAMP) yang merupakan metode amplifikasi yang sederhana dan mudah dilakukan. Tujuan dari penelitian ini yaitu membandingkan kedua metode untuk identifikasi jenis kelamin secara molekuler pada beberapa spesies dari suku Accipitridae. Jumlah sampel yang digunakan sebanyak 13 individu dari 7 spesies dan didapatkan hasil yaitu 5 individu betina dan 8 individu jantan menggunakan metode PCR dengan primer 2561/2728. Primer ACCIW dan ACCIZ pada LAMP tidak dapat mengamplifikasi gen *CHD-W* maupun gen *CHD-Z* dari 13 sampel suku Accipitridae. Primer EBW dan NEO-W dapat mengamplifikasi sampel betina maupun sampel jantan sehingga tidak dapat membedakan jenis kelamin betina atau jantan. Primer EB-Z sebagai kontrol keberadaan gen *CHD-Z* mampu mengamplifikasi sampel betina (ZW) dan jantan (ZZ). Penggunaan metode LAMP dalam penelitian ini belum dapat membedakan jenis kelamin jantan dan betina dari suku Accipitridae.